

放射線が遺伝子を傷つけた「証拠」を、高感度に検出 ヒト培養細胞におけるTK変異体のLOHパターン変化の検出

LOH

背景

宇宙放射線が生物に与える影響については、宇宙放射線が遺伝子に傷をつけるとがん化が進むのではないかという可能性が指摘されています。ですが、放射線が遺伝子そのものに傷をつけるところや、つけた傷がどのように修復されるのかについては、これまではなかなか観測できませんでした。

そこで、この実験では、遺伝子に放射線が直接傷を付けた「証拠」をヘテロ性の喪失(LOH)として高感度に検出できるように、ある「仕掛け」をしています。

目的

この実験のキーワードは「ヘテロ」です。ヘテロとは「異なった」という意味のギリシャ語でその反意語は「同じ」という意味の「ホモ」です。ヒトの細胞には染色体が23対あります。それぞれの染色体の上に遺伝子が配列されています。

実験では、ある一对の染色体上にある一方の遺伝子に変異を入れ、残る一方は正常のままにしておきます。異常と正常の組み合わせですから、「ヘテロ」の状態です。この状態で宇宙に持っていきます。もし宇宙放射線に当たって正常な染色体の方に傷がつくと、どちらも異常な状態の「LOH」になる可能性があります(図1)。

持ち帰ったサンプルを特殊な薬剤を加えて培養すると、「ヘテロ」、つまり染色体に何も変化がなかったものはすべて死んでしまい、変化のあった「LOH」だけが生きのまま検出できます(図2)。この方法では、生きている細胞と死んでいる細胞の区別は簡単につくために、たった1個の細胞に起こった変化でも確実に検出できます。

宇宙放射線には、特に染色体を切断してしまうほどの高いエネルギーをもった重粒子線が含まれています。重粒子線は細胞に与えるダメージが大きいので、この方法以外にも様々な方法で検出が可能です。ただし、国際宇宙ステーションの軌道は、重粒子線が頻りにふりそそぐわけではなく、もう少し低いエネルギーの放射線に当たり続けているという環境のため、その影響を検出するためには、感度の高い検出機能が必要になるのです。

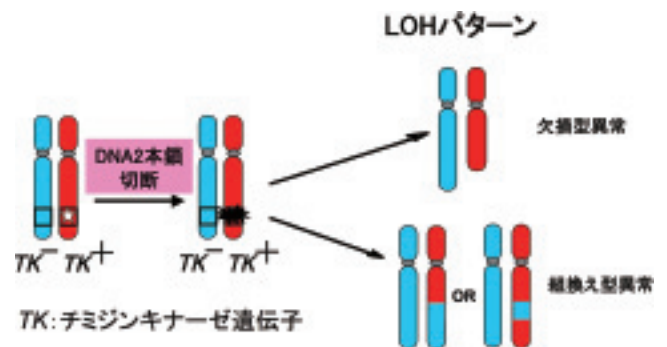


図1 ヘテロ性の喪失(LOH)のしくみ
染色体の片方に変異の入ったヘテロ状態の細胞を打ち上げる。もう一方にも傷がつき、「LOH」の状態へ変化すると検出できる。

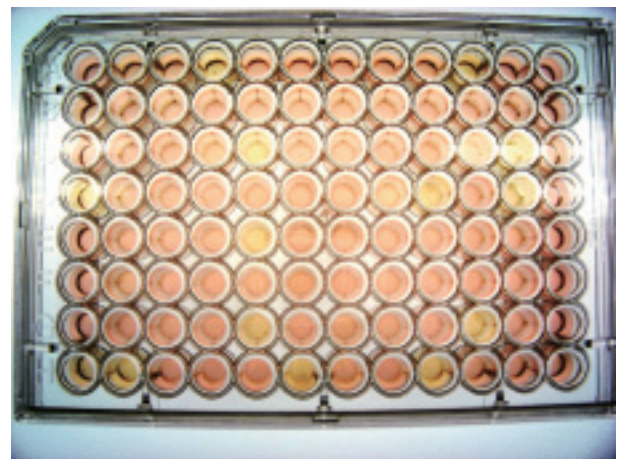


図2 培養液の色の変化によるLOHの検出
96個の穴のうち、ヘテロ性がなくなって「LOH」になったものが育つと培養液が赤から黄色に変わる。細胞が生きていて老廃物を出し培養液の色が変わってくるため。こんなふうに変化でヘテロの中から「LOH」を見つけ出す。

実験内容

ヒトのリンパ球の細胞を凍らせた状態で打ち上げます。一つ一つの細胞は、その中のある一对の染色体上の遺伝子の片方に変異を入れてあり、「ヘテロ」の状態になっています。

宇宙で凍結細胞を解凍し、微小重力区と約1Gの重力区で37℃で1週間程度培養した後、再び凍結して地上に持ち帰ります(図3)。持ち帰った細胞を特殊な薬剤を加えて培養すると、一方にだけ変異が残っている「ヘテロ」細胞は死んでしまい、両方に変異の入った「LOH」状態の細胞は生き残り、培養液が赤から黄色に変わることで判別できます(図2)。

この方法によって、宇宙で傷がついたことによってどちらの染色体にも変異のある「LOH」状態の細胞を検出できます。さらに、変異を起こしうる傷がどのようなものか、また、その傷を修復するためにどんな方法がとられたかも調べることができます。

ココがポイント!

「ヘテロ」の性質を利用して、膨大な数の細胞の中から変化のあった1個を探し当てる高感度の実験系です。地上では、この実験系を用いて、きわめて稀に起こる現象を検出し、解析が行われていますが、宇宙実験に使おうというのは世界で初めてです。

また、地上ではX線などの低エネルギーの放射線や重粒子線を個々に当てる実験はできますが、それらが混合した放射線環境は宇宙に特有であり、その影響を調べることは今後の有人宇宙活動に非常に重要です。宇宙実験ならではのポイントと言えるでしょう。

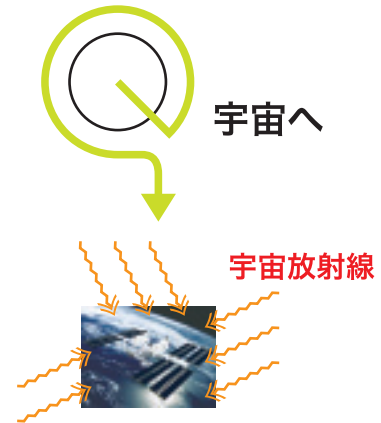
プロフィール



谷田貝 文夫

理化学研究所
先端技術開発支援センター
副主任研究員

専門：放射線生物学



ISS滞在中

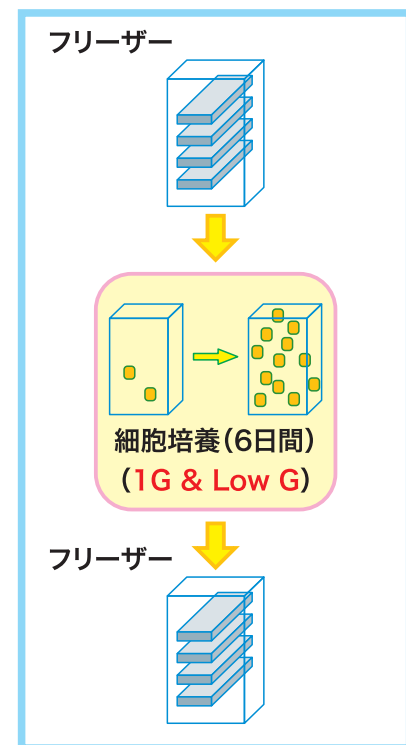


図3 宇宙実験の流れ

細胞を凍らせたまま、国際宇宙ステーションに打ち上げる。宇宙で37℃に温度を上げて1週間程度培養した後、再び凍結させて地上に持ち帰って解析する。